



TITLE:

Construction of a Multi-stacked Sheet-type Enzymatic Biofuel Cell

AUTHOR(S):

SAKAI, Hideki; MITA, Hiroki; SUGIYAMA, Taiki;
TOKITA, Yuichi; SHIRAI, Osamu; KANO, Kenji

CITATION:

SAKAI, Hideki ...[et al]. Construction of a Multi-stacked Sheet-type Enzymatic Biofuel Cell. *Electrochemistry* 2014, 82(3): 156-161

ISSUE DATE:

2014-03-05

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/187068>

RIGHT:

© The Electrochemical Society of Japan; この論文は出版社版ではありません。引用の際には出版社版をご確認ご利用ください。; This is not the published version. Please cite only the published version.

積層型シート状酵素バイオ電池の構築

酒井 秀樹^a, 三田 洋樹^a, 杉山 太喜^a, 戸木田 裕一^a, 白井 理^b, 加納 健司^{*b}

a ソニー株式会社 (〒243-0014 神奈川県厚木市旭町 4-14-1 厚木 TEC)

b 京都大学大学院 農学研究科 応用生命科学専攻 (〒606-8502 京都市 左京区 北白川追分町)

Construction of a multi-stacked sheet-type enzymatic biofuel cell

Hideki SAKAI^a, Hiroki MITA^a, Taiki SUGIYAMA^a, Yuichi TOKITA^a,
Osamu SHIRAI^b, Kenji KANO^{*b}

a Sony Corporation, Atsugi Tec. No.1, 4-14-1 Asahichou, Atsugi-shi, Kanagawa,
243-0014, Japan

b Kyoto University, Division of Applied Life Sciences, Graduate School of
Agriculture, Sakyo, Kyoto, 606-8502, Japan.

Corresponding author: kano.kenji.5z@kyoto-u.ac.jp

ABSTRACT

We have constructed a sheet-type glucose/dioxygen enzymatic biofuel cell with multi-stacked structure, in which one biocathode is sandwiched with two bioanodes in parallel. The energy density of the biofuel cell reached 14.1 mWh cm⁻³. The cell has achieved the acceptable performance on re-fueling, and the stability of the cell before use was drastically improved by adding raffinose.

Keywords : Biofuel Cell, Bioelectrocatalysis, Multi-stack, Sheet-type

1. 緒言

バイオ電池は、生体エネルギー変換システムを利用した次世代エネルギーデバイスであり、理論的には身近で再生可能なエネルギー源(glucose 等)から高いエネルギー容量密度で発電できることから、安全・クリーンな電池として期待されている¹⁻⁶。バイオ電池の生体触媒として単離酵素を用いる酵素バイオ電池は、太陽電池並みの出力密度を実現できており、医療機器等の小型機器の電源としても期待されている。ただし、実用化に向けて出力、容量、耐久性といった面でいくつかの課題も残されている。

これまで我々のグループでは、glucose を燃料とした酵素バイオ電池の出力の向上に注力し、電極及び電解溶液についての技術開発を進め⁷、世界に先駆けて、電極投影面積当たり 10 mW cm^{-2} の出力密度を達成した⁸⁻¹⁰。また積層構造にした厚膜状の酵素バイオ電池を試作することで、 100 mW 級の出力で Walkman[®]等の小型電子機器の動作にも成功した⁸⁻¹⁰。

これまでに試作した厚膜状の酵素バイオ電池系では、例えば、電池(28 cm^3)に1回目の glucose 燃料(0.4 M , 8 cm^3)を注入することで、小型電子機器としての RCカーを連続 1 時間動作させることができた。この電池は、使用開始時には、体積当たりで最大 5 mW cm^{-3} の出力密度を示した⁸⁻¹⁰。しかし、電池性能は経時的に劣化し、最終的に出力密度は 10 分の 1 以下となり、発電された全容量は 28 mWh と小さな値となった。結果として、体積当たりの容量密度は 1 mWh cm^{-3} 、glucose 24 電子完全酸化反応の内、本電池系で利用している 2 電子で換算した際の容量変換効率は 13% と見積られ、容量特性は著しく低くなった。さらに 1 回目の燃料を排出して 2 回目の燃料を注入しても、その性能は初回のものに比べ極めて低いものであった。この厚膜状酵素バイオ電池の燃料体積効率(= 燃料体積/電池体積, 電池体積 = 燃料体積 + 発電部体積)は 0.29 であり、出力を優先させたために 7 割が発電部という効率の悪い構成であった。その際の出力は、glucose 濃度が 0.4 M の時に最大であり、それ以上では逆に低下した。このような容量特性が低い要因として、詰め込まれた厚膜状の電極内への物質供給が悪くなり、

結果的に燃料の容量変換効率の低下、電極内での pH 変化による性能劣化、燃料の低交換性、燃料の高濃度化の限界等を引き起こしたことが挙げられる。このように電池構造設計において、高出力と高容量とは一般的にトレードオフの関係にあるが、実用化を目指すにはこれら電池性能をバランスさせた電池設計・技術開発が必要である。そのためにはまず、電極自体をシート(薄膜)状にする必要がある。我々はこれまで、グリーティングカード用のシート状のバイオ電池を報告した¹¹が、現時点で他の報告例¹²⁻¹⁷を含めて、十分な出力と容量密度を共に実現した例はない。

そこで本研究では、これまでの出力をある程度維持したうえで、容量密度を向上させることを目標として、電極材料の構成・作製プロセスを見直し、積層型シート状酵素バイオ電池(Fig. 1)の構築を検討した。以前に報告したセル(厚膜状酵素バイオ電池)では、外側から **biocathode**, **bioanode**, 燃料タンクという順番の電池構造であった⁷が、本研究では、燃料供給の向上を狙い、外側から燃料タンク, **bioanode**, **biocathode** という逆の順番にした。また、燃料注入量を増加させることを目的として電極をシート状にして薄膜化した。本論文では、新規な酵素バイオ電池の構成・作製法の詳細と、電流の負荷特性評価からの容量特性の結果と共に、電池の耐久性(保存, 燃料交換, 連続使用)について報告する。

2. 実験

2.1. 電池構造

Figure 1(a) にメディエータ型酵素バイオ電池の反応模式図を示す。Bioanode では、酵素・補酵素系として、glucose dehydrogenase (GDH) と diaphorase (DI) および NADH を用い、電子メディエータとして anthraquinone-2-sulfonic acid (AQ2S, $E^{\circ'} = -0.45$ V vs. Ag|AgCl|KCl (sat.), pH 7)¹⁸ を用いた。GDH 触媒で glucose を NAD^+ により 2 電子酸化し、生成する NADH を DI を触媒として AQ2S で酸化する。そこで生成する還元型 AQ2S を電極上で酸化する。一方, biocathode では、

bilirubin oxidase (BOD)を触媒として, 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid (ABTS, $E^{\circ} = 0.62$ V vs. Ag|AgCl|KCl (sat.), pH 7)¹⁹を電子メディエータとして用いた. ここでは O_2 を BOD 触媒の下, ABTS で 4 電子還元し, 生成する ABTS 酸化体を電極上で還元する. Bioanode と biocathode の作製法は後に詳しく述べる.

Figure 1(b)に簡単な組立図を示す. まず, 作製した bioanode と biocathode の間にセパレータとして不織布(厚さ 180 μm)を挟み, その両外側から集電体チタンメッシュ(厚さ 50 μm)を重ねた. 次にこれを 1 対作製し, 2 つの biocathode を対向させた. その間にガス拡散層としてカーボンペーパー(CP, 東レ製, 厚さ 200 μm)を集電体チタンメッシュと一緒に配置した. その両外側から, 燃料供給口を設けたプラスチック薄膜フィルム(厚さ 100 μm)の淵をラミネート圧着させることで, 積層型シート状酵素バイオ電池ユニットを得た. Bioanode と biocathode の 2 つずつのチタンメッシュを並列接続した. ラミネートする際, CP の上端が外部に露出するようにした. 電池ユニットの厚さは 2.3 mm となった.

Figure 1(c)に示すように, 作製した積層型シート状酵素バイオ電池ユニットを燃料タンク(体積 6.5 cm^3)に挿入し, 燃料として, 1.2 M glucose/2 M リン酸緩衝液(pH 7.5)を 3.5 cm^3 注入した.

2.2. 試薬

酵素 GDH と DI は東洋紡(株)から, BOD は天野エンザイム(株)から購入した. Glucose, NADH, ABTS はシグマアルドリッチ(株)から, AQ2S は東京化成工業(株)から購入した. 酵素固定化用の試薬としての poly-L-lysine (PLL, MW > 300,000)及び glutaraldehyde (GA)はシグマアルドリッチ(株)から購入した. Bioanode で用いる hierarchical porous carbon (HPC)は所定の方法²⁰により, 合成・調製した.

2.3. Bioanode の作製

電極基材として市販の織物構造を有する炭素繊維材料(厚さ 320 μm)を 2×2 cm 角にカットし UV オゾン処理後使用した. HPC の水懸濁液(HPC, 14.4 mg [対象成分の乾燥重量]), AQ2S の水／アセトン溶液(AQ2S, 16.4 μg), NADH 水溶液(NADH, 24.4 mg), GDH と DI を含むリン酸緩衝液(GDH, 116 mg; DI 17.4 mg), PLL 水溶液(PLL, 18 mg), および GA 水溶液(GA, 113 mg)を記載順にピペットを用いてできる限り均一に塗布し, その都度 40°C で乾燥し, bioanode を得た.

2.4. Biocathode の作製

電極基材は bioanode と同様のものを用いた. カソードインク水溶液は以下の組成で自転・公転ミキサーを用いて, 十分に混合して調製した; 0.5 g ketjenblack (KB), 0.5 g vapor-grown carbon fiber (VGCF), 0.2 g carboxymethylcellulose (CMC), 0.4 g ABTS, 0.6 g BOD, 1.0 g raffinose, および $12\text{ cm}^3\text{ H}_2\text{O}$. このカソードインク水溶液を電極基材に両面塗布後, 40°C で乾燥した. 最後に撥水材として polytetrafluoroethylene (PTFE)を含む溶液を適量塗布・乾燥後, 2×2 cm 角にカットして biocathode を得た(インク乾燥重量 10 mg cm^{-2}).

2.5. 電流負荷特性評価

電気化学測定は, 1480 Multi-Stat (Solartron 社製)を用いて, bioanode 側のチタンメッシュを作用極に, biocathode 側のチタンメッシュを対極に接続して, 2 極式で常温・常圧・静止系で, 電流負荷特性評価 (4, 6, 8, 10, 12 mA)を行った. 電圧が 0.4 V となった時点で測定を中止した.

3. 結果及び考察

3.1. 発電の仕組み

この酵素バイオ電池の発電の仕組みは, Fig. 1(a)に示すとおりである. Bioanode では, NAD 依存性の GDH が触媒となり glucose を 2 電子酸化し, gluconolactone

を生じる。この反応の電子受容体である NAD^+ は NADH に還元される。 $\text{NADH:quinone oxidoreductase}$ の一種である DI を触媒として、 NADH を AQ2S で酸化する。生成する AQ2S の還元体が、電極反応により電子とプロトンを放出する。プロトンは電解質を介してセパレータを透過して biocathode 側に移動する。Biocathode では、BOD が触媒となって、電極から電子を受け取った還元型 ABTS とプロトンを用いて、酸素を 4 電子還元して水を生成する。この一連の電気化学反応の中で、電子が bioanode から外部回路を介して biocathode 側に流れる過程で電力が得られる。作動電位を増加させるために、負極メディエータとして E° が非常に負である AQ2S を、また正極メディエータ E° が非常に正である ABTS を選択したことがひとつの特徴である。

3.2. Bioanode の特徴

Bioanode 側では、多孔質炭素材料 HPC の細孔内に固定化成分; GDH, DI, NAD^+ , AQ2S を効率的に取り込むことで、多くの固定化成分の測定溶液中への溶出を抑え、特に燃料交換に伴う性能を維持できることがわかった^{21,22}。また、従来は電極基材として用いていたカーボンフェルト(CF)は炭素繊維がランダムな方向性を持ったものであったが、今回の基材は、10 μm 程度の炭素繊維が 100 μm 程度の束になった織物構造を有している。このことにより、電極垂直方向及び水平方向への物質供給経路を多くし、実効的な電極表面積を増加した。

3.3. Biocathode の特徴

Biocathode 側では、炭素材料としての KB と VGCF を主成分とし、CMC をバインダーとした水溶性インク、および撥水材料を用いたことで、これまで困難であった ABTS の安定な保持と空気拡散型電極特性の発現を同時に達成できた²³。上述した条件で作製した biocathode の単極評価で、空気中のパッシブモードの下、電流密度 1 mA cm^{-2} の負荷で、0.2 V (vs. Ag|AgCl)以上の電位を少なくとも 100 h 持続することに成功した。また raffinose を添加することで、燃料注入前の

長期保存性を大幅に向上できることがわかった^{24, 25}。さらに電池構造として、Fig. 1(b), (c)に示すように、ガス拡散層 CP の上端を集電体の間から電池外部に露出させることで、水没させずに外部からの空気を効率的に取り込むことができた。

3.4. 電池の構造

既報の厚膜型酵素バイオ電池では、2つの **bioanode** をその内側に燃料タンクを保持し対向するように並列接続し、その両外側に2つの **biocathode** を配置し並列接続したタイプであり、さらにその外側から2枚の固定板により圧縮される構造であった⁷。高出力化を狙うために、両極とも CF 電極基材を数枚重ねたことで厚くなり結果的に発電部が大きくなった(燃料／電池体積比 = 0.29)。

本研究では、Fig. 1(b)に示すように内側に **biocathode** を、その外側に **bioanode** を配置し、薄膜化したシート状(厚さ 2.3 mm)のユニットを燃料タンクに挿入した構造になっている(Fig. 1(c))。これにより、大きな電極面積 ($2 \times 2 \text{ cm}^2 \times 2 \text{ 枚} = 8 \text{ cm}^2$)を有するユニットを挿入しても、燃料タンク内に、大きな燃料容積 (3.5 cm^3)を確保できるようになった。その結果、燃料タンクを含めた今回の電池(6.5 cm^3)は、従来の電池構造と比較して約2倍の、燃料／電池体積比 = 0.54 を実現できた。

3.5. 電流負荷特性評価

この積層型シート状バイオ電池ユニットを用いて、電流負荷特性を評価した。このユニットが入った燃料タンクには、燃料として 2 M リン酸緩衝液(pH 7.5)に溶かした 1.2 M glucose 溶液を 3.5 cm^3 注入した。今回の電池に用いた燃料組成は、出力／容量／耐久性のバランスで最適化して決定したが、特に燃料濃度は従来のものと比較して3倍濃いものとした。これは、①上述した織物構造を有する炭素繊維電極を用いたこと、及び②2倍の燃料／電池体積比の構造を用いたことによって、粘度の高い高濃度 glucose 燃料であっても、性能を損なうことなく電

極表面に供給され易くなり、効率的に電力に変換できたためと考えている。

燃料注入した電池を電気化学測定装置に接続し開回路電圧が 1 V となった時点で、それぞれの電池に電流負荷(4, 6, 8, 10, 12 mA)をかけて測定を開始した。その結果を Fig. 2 に示す。

測定開始後、0.9 V まで電圧が降下したが、いずれの場合も正味の発電を観測できた。ただし、10 mA 及び 12 mA の条件では測定開始 1 h 未満でカットオフ電圧 0.4 V に達した。4, 6, 8 mA の条件では、電流が小さい順に発電時間は長くなり、発電電位も高くなった。4 mA では、平均電位 0.84 V、発電時間 27.3 h を示した。

これらの結果をもとに、容量密度及び変換効率を計算したものを Table 1 にまとめる。4, 6, 8 mA の glucose からの 2 電子換算のクーロン変換効率は 45 % 以上となり、燃料である glucose の約半分が酵素電極反応に用いられたと考えられる。このことは、測定後の溶液中の glucose 濃度を、glucose センサーを使って測定した結果からも支持された(結果非開示)。また 4, 6, 8 mA の実験条件を電流密度に換算すると、それぞれ 0.5, 0.75, 1 mA cm⁻² となる。上述した biocathode の性能 (1 mA cm⁻² で 100 h) を考慮すると、4, 6, 8 mA で 0.4 V に電圧降下して発電ストップする要因は、bioanode 側の性能低下、つまり発電により glucose 燃料濃度が低下したものと推定される。これを裏付ける結果として、測定後に 1 回目の燃料を廃棄して 2 回目の燃料を注入することで、1 回目と同様に発電することができた^{21, 22}。一方、10 mA (1.25 mA cm⁻²) 及び 12 mA (1.5 mA cm⁻²) では、どちらの電極反応が律速となったのかは不明であるが、高い値での電流規制に電極反応が対応できずに電圧降下し、発電できなくなったと考えられる。その際、2 電子換算で glucose を 5% 以下しか利用できていないことが分かった。

続いて電池体積当りの容量密度を計算すると、4 mA の場合で最大の 14.1 mWh cm⁻³ を示した。ただし、電池体積当りの平均出力密度が 0.5 mW cm⁻³ と小さくなった。電池性能のバランスという観点では、8 mA の場合の方が優れた性能を示し、容量密度 12.8 mWh cm⁻³ および出力密度 1.0 mW cm⁻³ が得られた。この時の

容量変換効率は 29.8% に相当する。これらの値は、従来の電池性能と比較すると、出力密度では 1/5 であるが、容量密度で 13 倍、容量変換効率で 2.3 倍に相当する。

3.6. 保存に関する耐久性評価

生体材料を用いるバイオ電池は、一般的に熱に対する耐久性が低い。これはタンパク質である酵素の熱変性により活性が低下するためである。我々の系 (Fig.1(a)) の中で、特に正極酵素 BOD の熱安定性が問題であった。これを解決する手段の一つとして、遺伝子工学を用いた耐熱性 BOD の開発を行い、biocathode の保存性能の向上に関する成果を報告してきた²⁶。ここでは、酵素 BOD 固定化膜中に糖類を添加することで biocathode の保存性能を向上させた結果について説明する。上述した biocathode の作製プロセスにおいて、raffinose を含めた各種糖類を酵素溶液と混合後、凍結乾燥により粉末化したものを用いて電極作成後、それを高温条件(乾燥, 80 °C)下で保存し、保存時間に対する触媒電流値の変化を評価した。結果を Fig. 3 に示す。糖類を添加していない電極(control)は 1 日で触媒電流値がほぼゼロになった。一方糖類を添加したものは、触媒電流値の低下が抑制され、5 日後の触媒電流値の維持率は、raffinose 及び trehalose は 30%, maltose は 60% と大幅に向上した。この糖類による安定化の理由としては、保存対象物の周囲に糖類が高粘度のガラス状態を形成することで、物理的・化学的・生物学的変化が容易に起こらないためと説明されており²⁷, 一般に構成する単糖の数が増えると(分子量が増えると)ガラス転移温度も高くなり、室温における安定性も向上する。最終的には、これら糖類を添加した正極を用いてバイオ電池を作製し、バイオ電池全体の保存耐久性が高くなっていることを確認した上で、出力的に最も高性能であった raffinose を採用した。

3.7. 燃料交換・連続使用に関する耐久性評価

バイオ電池は水に溶解した glucose が燃料となるため、発電に従って燃料溶液

の体積は変わらず，**glucose** の濃度が低下する．再び発電するためには，燃料溶液自体の「交換」が必要である．この際，問題であったのが，電極に固定化してあった酵素や電子メディエータの溶出である．特に，燃料溶液に接している **bioanode** の電子メディエータの溶出の影響は大きく，燃料溶液の交換時のみならず，連続使用時の耐久性に対しても問題であった．そこで我々は，電子メディエータは従来のものを使用し，それを吸着させる側の炭素電極材料に注目した．多種類の多孔質炭素材料を用いて電極を作製し，その性能を評価した．その結果，最も良い性能を示したのが，階層的な細孔分布を持つ **HPC** であった²⁰．これは稲の籾殻を焼成するなどして作製した多孔質の炭素材料であり、マイクロ孔(0.1–2 nm)、メソ孔(2–50 nm)が階層的(hierarchical)に形成されている．これを用いることで，電子メディエータがこれら細孔内に取り込まれ^{21,22}，これまで 1 回目の燃料交換で電子メディエータの大半が溶出していたものが大幅に抑制され，2 回目以降の燃料交換においても性能が維持される系を達成できた．

この技術を導入している上述の積層型シート電池をさらに 3 直列 2 並列に接続することでさらに高性能にした電池系を，既存電池を取り外したソニー製ラジオ(ICF-B03)に接続し，ラジオの標準動作(40 mW, 1.6 V カットオフ)の確認と共に燃料交換・連続使用の耐久性評価を行った．結果を Fig. 4 に示す．1 回目の燃料における電池の容量密度も上述した性能と同程度であった．また 2 回目の燃料交換以降において徐々に出力低下が見られるが，連続使用 100 h 程度の十分な時間動作することが確認できた．

4. 結論

今回、容量向上のために、燃料容積効率及び燃料供給能が優れた積層型シート状バイオ電池を設計し、その電池特性評価を行った。その結果、従来の電池と比較して、出力密度は多少低下したが、容量密度と容量変換効率は従来に比べて大幅に向上させることに成功した。さらに今回の電池は、燃料交換による電池性能の低下の問題を大幅に改善できた上、使用前の長期保存性能を大幅に向上することに成功した。さらにこの電池は直列・並列接続の設計自由度が高く、実際に非常用ラジオ等の燃料交換の実動作も確認している。

ただし、現在市販されている一次電池等の実用電池の容量密度は、最低でも 100Wh cm^{-3} は必要であり、さらなる高容量化が必要であると同時に低コスト化も重要である。

今後電池構造・材料の最適化、燃料の高濃度化、燃料の完全酸化に向けた複合酵素反応の導入、を検討することで、さらなる高容量化のチャレンジが必要である。

文献

1. S. C. Barton, J. Gallaway, and P. Atanassov, *Chem. Rev.*, **104**, 4867 (2004).
2. N. Mano, F. Mao, and A. Heller, *ChemBioChem*, **5**, 1703 (2004).
3. J. A. Cracknell, K. A. Vincent, and F. A. Armstrong, *Chem. Rev.*, **108**, 2439 (2008).
4. M. J. Moehlenbrock and S. D. Minter, *Chem. Soc. Rev.*, **37**, 1188 (2008).
5. D. Leech, P. Kavanagha, and W. Schuhmannb, *Electrochim. Acta*, **84**, 223 (2012).
6. K. Kano (supervising editor), *Recent Progress in Biofuel Cells*, CMC Publishing (2011). [in Japanese]
7. H. Sakai, T. Nakagawa, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Ikeda, S. Tsujimura, and K. Kano, *Energy Environ. Sci.*, **2** 133 (2009).
8. H. Sakai, T. Nakagawa, H. Mita, H. Kumita, and Y. Tokita, *217th Electrochemical Society Meet. Abstr. - Electrochem. Soc.*, **1001**, 396 (2010).
9. T. Nakagawa and H. Sakai, *Nenryou Denchi*, **10 (3)**, 12 (2011). [in Japanese]
10. T. Nakagawa, H. Mita, H. Kumita, H. Sakai, Y. Tokita, and S. Tsujimura, *Electrochem. Commun.*, **36**, 46 (2013).
11. <http://www.sony.co.jp/SonyInfo/News/Press/201112/11-1205/index.html>. [in Japanese]
12. T. Miyake, S. Yoshino, T. Yamada, K. Hata, and M. Nishizawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 5129 (2011).
13. G. P. M. K. Ciniciatoa, C. Laua, A. Cochranec, S. S. Sibbettc, E. R. Gonzalez, and P. Atanassov, *Electrochim. Acta*, **82**, 208 (2012).
14. L. Zhang, M. Zhou, D. Wen, L. Bai, B. Lou, and S. Dong, *Biosens. Bioelectron.*, **35**, 155 (2012).
15. X. E. Wu, Y. Z. Guo, M. Y. Chen, and X. D. Chen, *Electrochim. Acta*, **98**, 20 (2013).

16. P. Jenkins, S. Tuurala, A. Vaari, M. Valkiainen, M. Smolander, and D. Leech, *Enzyme Microb. Technol.*, **50**, 181 (2012).
17. I. Shitanda, S. Kato, Y. Hoshi, M. Itagaki, and S. Tsujimura, *Chem. Comm.*, **49**, 11110 (2013).
18. K. Kano, *Rev. Polarog.*, **48**, 29 (2002).
19. S. Tsujimura, H. Tatsumi, J. Ogawa, S. Shimizu, K. Kano, and T. Ikeda, *J. Electroanal. Chem.*, **496**, 69 (2001).
20. S. Tabata, H. Iida, T. Horie, and S. Yamada, *Med. Chem. Commun.*, **1**, 136 (2010).
21. K. Murata, S. Fujita, S. Yamanoi, H. Sakai, and Y. Tokita, *221th Electrochemical Society Meet. Abstr.*, **1201**, 1428 (2012).
22. S. Fujita, S. Yamanoi, K. Murata, H. Mita, T. Samukawa, T. Nakagawa, H. Sakai, and Y. Tokita, to be submitted.
23. T. Nakagawa, K. Murata, T. Samukawa, S. Fujita, H. Mita, and H. Takada, PCT International Application WO2013/065581.
24. T. Samukawa, T. Sugiyama, H. Kumita, D. Yamaguchi, T. Nakagawa, H. Sakai, and Y. Tokita, *221th Electrochemical Society Meet. Abstr.*, **1201**, 1455 (2012).
25. H. Kumita, and H. Sakai, *Material Stage*, **12 (12)**, 76 (2013). [in Japanese]
26. H. Kumita, H. Sakai, Y. Tokita, T. Hatazawa, T. Takahashi, and T. Sugiura, *238th American Chemical Society National Meet.*, Washington, D.C., Fuel, **272** (2009).
27. F. Franks, and M. Terashima, *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, **41**, 810 (1996). [in Japanese]

Figure Captions

Figure 1. Structure of a multi-stacked biofuel cell unit with a fuel tank.

- (a) Pattern diagram of the component materials and reactions in the biofuel cell.
(b) Schematic view of the unit composed of two biofuel cells connected in parallel. The total area of the bioanode or the biocathode in the unit is 8 cm^2 . The thickness is 2.3 mm.
(c) Assembly diagram of the unit and the fuel tank. The total volume is 6.5 cm^3 . The input volume of fuel (1.2 M glucose in 2 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)) is 3.5 cm^3 .

Figure 2. Time course of galvanostatic polarization for the multi-stacked biofuel cell unit. Curves (a) ———, (b) — — —, (c) — · —, (d) — — — —, and (e) — — — — show the data at constant current values of 4 mA, 6 mA, 8 mA, 10 mA, and 12 mA, respectively.

Figure 3. Durability evaluation for stability of the biocathode containing a sugar group under dry condition at 80°C . ■; control, ◆; sucrose, ●; raffinose, ▲; trehalose, □; maltose.

Figure 4. The continuous operating test of a radio (Sony, ICF-B03) powered by 15 multi-stacked biofuel cell units connected in 5 parallel and 3 series. Black line is voltage (left y-axis), gray line is current (right y-axis). The total volume of the 15 units is 66 cm^3 . The input volume of fuel (1.2 M glucose in 2 M potassium phosphate buffer (pH 7.5)) is 36 cm^3 .

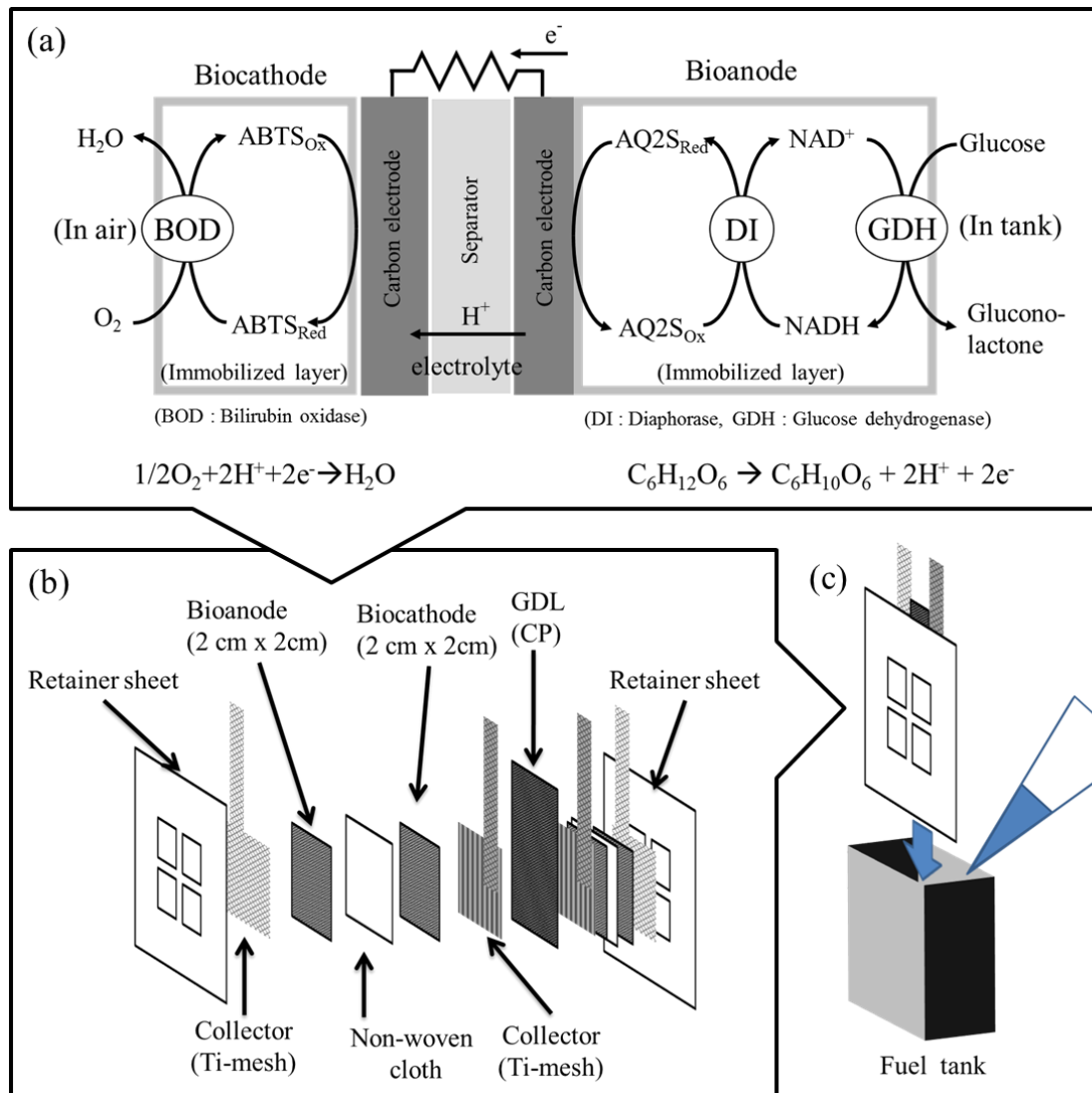


Figure 1

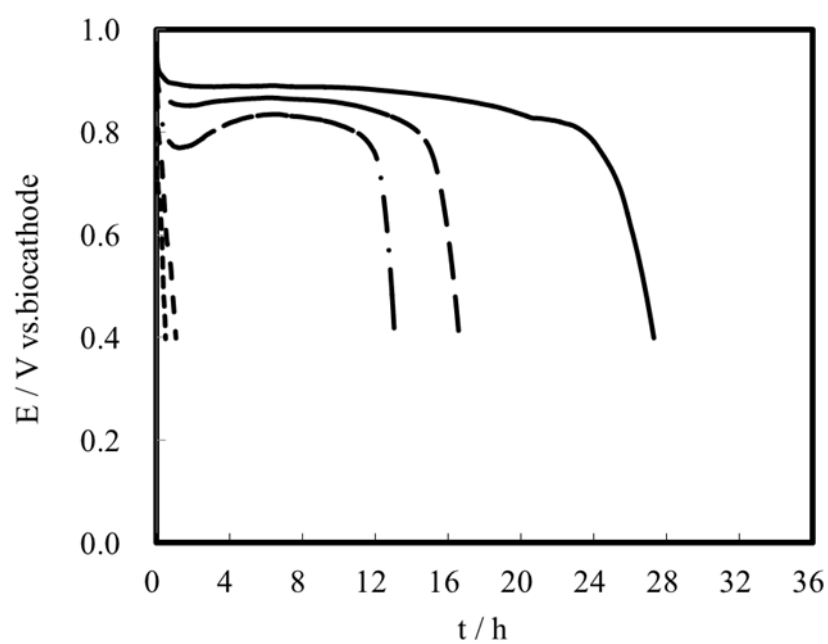


Figure 2

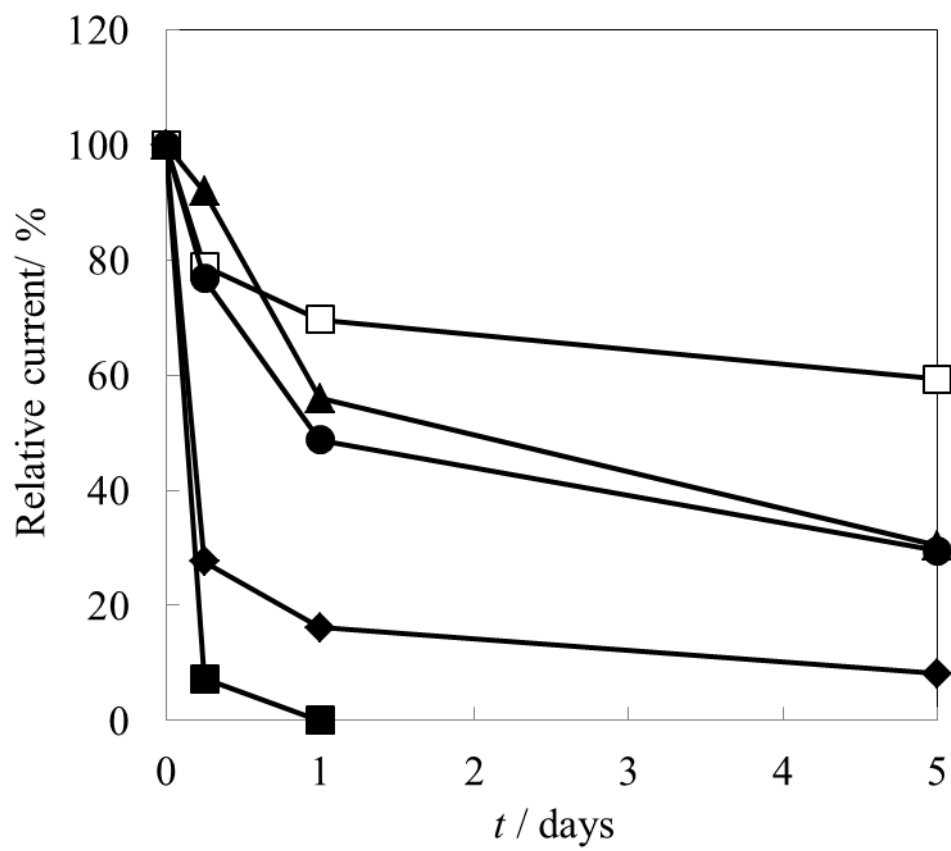


Figure 3

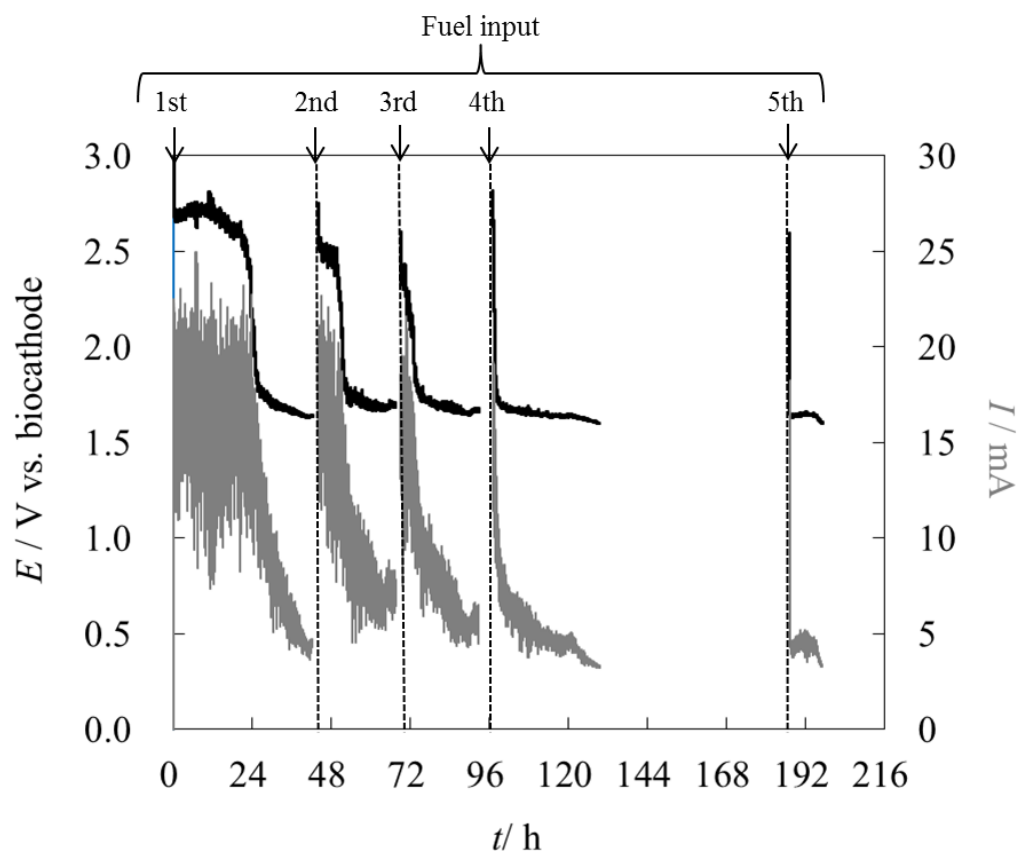


Figure 4

Table 1. Cell performance evaluated from the data given in Fig. 2.

Current / mA	Operating Time* / h	Coulomb / C	Coulomb efficiency** / %	Energy / mWh	Energy efficiency** / %	Energy density / mWh cm ⁻³	Ave. power density / mW cm ⁻³
4	27.3	392.8	48.5	91.8	32.9	14.1	0.5
6	16.6	358.6	44.3	82.6	29.6	12.7	0.8
8	13.1	376.2	46.5	83.1	29.8	12.8	1.0
10	1.1	38.4	4.7	6.6	2.4	1.0	1.0
12	0.5	21.5	2.7	3.6	1.3	0.6	1.1

*: time to reach into 0.4 V of the cell voltage

**: calculation for theoretical value in terms of 2-electron reaction

Table 1